

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen/Nürnberg  
(Direktor: Prof. Dr. N. Henning)

Die paratumorale Wirkung  
des Thiamin  
auf die Überlebenszeit  
und die Rückbildung  
experimenteller Tumoren

Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
der  
Hohen Medizinischen Fakultät  
der  
Friedrich-Alexander-Universität  
zu  
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt  
von Erich Dister  
aus Fürth/Bay.

1962



Dekan: Prof. Dr. Windorfer

Referent: Prof. Dr. Dr. G. Barth

Correferent: Prof. Dr. N. Henning

Tag der mündl. Prüfung: 18., 19. und 20. 12. 1962



*Sonderdruck aus*

**STRAHLENTHERAPIE Band 121, Heft 2 (1963)**

Herausgegeben von J. Becker, R. Birkner, H. Langendorff, H. Meyer

VERLAG URBAN & SCHWARZENBERG / MÜNCHEN UND BERLIN

Alle Rechte, auch die des Nachdrucks, der photomechanischen Wiedergabe und der Übersetzung, vorbehalten



Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. N. Henning) und der Wilhelm-Conrad-Röntgen-Klinik der Universität Gießen (Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Barth)

## **Zusätzliche medikamentöse Behandlung des Tumorbettes**

### **IV. Mitteilung: Untersuchungen zur Frage der paratumoralen Wirkung des Thiamins auf die Rückbildung des experimentellen Sarkoms 180 und die Überlebenszeit des homozygoten Mäusestammes NMRI**

Von

**Gunther Barth, Erich Dister und Herbert Graebner**

Mit 5 Abbildungen

Im Rahmen der in dieser Untersuchungsreihe zusätzlich zur Bestrahlung zu erprobenden medikamentösen Behandlung der gesunden Tumorumgebung [1, 2, 3, 4] schien es angeraten, auch das Vitamin B<sub>1</sub> einzusetzen. Erfahrungen der letzten Jahre zeigten, daß durch Gaben von Thiamin und Pyridoxin bei Patienten kaum Reaktionen nach Strahlenbehandlung bösartiger Tumoren auftraten. Durch Vitamin-B<sub>1</sub>-Applikation erzielten schon 1942 *Botsztejn* [5] und *Lüdin* [6] bei der Therapie der Strahlenkrankheit gute Erfolge. In 90% der Fälle konnte Besserung der beim Strahlensyndrom auftretenden Beschwerden erreicht und so die begonnene Strahlentherapie ohne Unterbrechung zu Ende geführt werden. Da bisher nur sehr spärliche Angaben über die Anwendung von Thiamin und Pyridoxin zur Tumorbehandlung im Schrifttum vorliegen, untersuchten wir den Einfluß dieser beiden Verbindungen auf das schnell wachsende Sarkom 180 (Crocker-Sarkom) an einem Mäuse-Inzuchtstamm (s. auch nachfolgende Mitteilung). Es sollte dabei geklärt werden, in welchem Umfang die Vitamine B<sub>1</sub> und B<sub>6</sub> zusätzlich zur Strahlenbehandlung die Tumorregression fördern und die Überlebenszeit verlängern.

Für das Vitamin B<sub>1</sub> gilt heute als erwiesen, daß es als Co-Faktor an wesentlichen intermediären Stoffwechselprozessen beteiligt ist. In erster Linie ist der Kohlenhydratstoffwechsel zu nennen, mit dem es in Wechselbeziehung steht. Der Bedarf an Vitamin B<sub>1</sub> hängt vom Umfang der Kohlenhydratzufuhr ab, da kohlenhydratreiche Kost den Thiaminbedarf erhöht [7]. Als Pyrophosphorsäureester bildet Thiamin das Co-Ferment der Carboxylase, die an verschiedenen Stellen des Kohlenhydratabbaues ansetzt. Ihre wichtigste Aufgabe besteht in der Decarboxylierung der Brenztraubensäure, wodurch letztlich die Entstehung von Acetyl-Coenzym A vermittelt wird, mit dessen Hilfe die Kondensation von

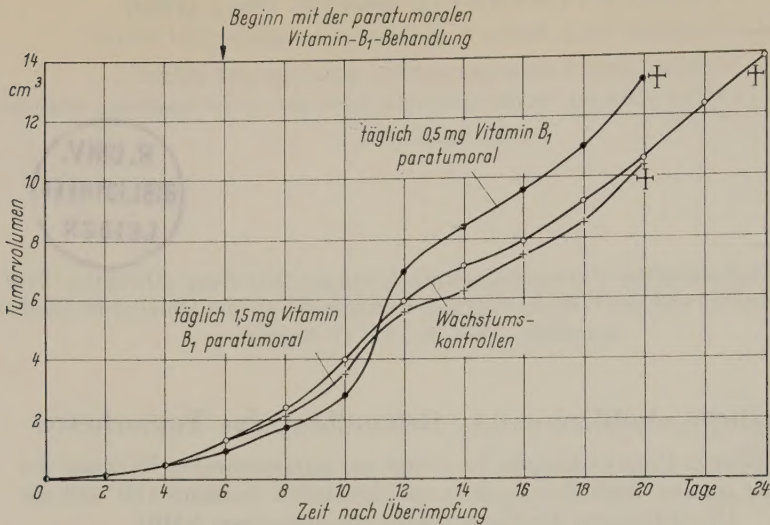


Abb. 1. Tumorentwicklung unter paratumoraler Verabreichung zweier verschieden hoher Vitamin-B<sub>1</sub>-Dosen ohne Röntgenbestrahlung.

Oxalessigsäure mit „aktivierter“ Essigsäure zur Zitronensäure erfolgt. Damit erfolgt der Übergang von der anaeroben zur aeroben Glykolyse, die dann im sogenannten Zitronensäurezyklus abläuft [8]. Weiterhin bewirkt Carboxylase die Überführung der  $\alpha$ -Keto-glutarsäure in die Bernsteinsäure. — Brenztraubensäure und  $\alpha$ -Keto-glutarsäure werden aber gerade bei Strahleneinwirkung auf den Organismus in vermehrtem Umfang gebildet [9]. Verminderung der Alkalireserve durch Liegenbleiben dieser „Schlackensubstanzen“ wäre die Folge.

### Methodik

Die Experimente erfolgten an insgesamt 235 männlichen weißen Mäusen des Inzuchtstammes NMRI (Naval Medical Research Institute). Als Versuchstumor verwendeten wir das unter der Bezeichnung S 180 bekannte histologisch gesicherte Crocker-Sarkom der Maus, das nach dem Verfahren von Oettel und Wilhelm [10, 11] überimpft wurde.

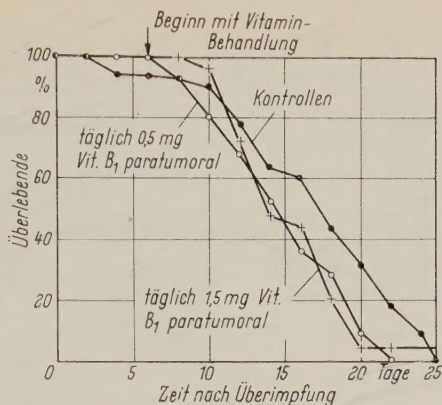
Wir bestrahlten unter Tiefentherapiebedingungen in der gleichen Weise, wie früher beschrieben [12]. Zunächst wurde in einem Vorversuch am 6. Tag nach der Tumortransplantation mit der paratumoralen Vitamin-B<sub>1</sub>-Behandlung des unbestrahlten Tumors begonnen. Um abzugrenzen, ob die Beeinflussung des unbehandelten Tumors eine Dosisabhängigkeit zeigt, testeten wir zwei verschieden hohe Dosen von Vitamin B<sub>1</sub>\*, und zwar 0,5 mg sowie 1,5 mg/die.

Maurer und Dittmeyer [13, 14], die die Wirkung von ionisierenden Strahlen auf Vitamine untersuchten, stellten fest, daß diese dabei mehr oder weniger zerstört werden. Um eine strahlenchemische Veränderung des Vitamin B<sub>1</sub> im Organismus der Versuchstiere unter Röntgenbestrahlung zu vermeiden, injizierten wir daher im Hauptversuch das Präparat immer erst im Anschluß an jede Bestrahlung.

Die in Abbildung 1 zusammengefaßten Untersuchungen ergaben, daß unter täglicher Verabreichung von 0,5 mg Thiamin das Tumorstadium vom 11. Tag nach Überimpfung an gegenüber den Kontrollen beschleunigt ist. Bei den täglich

\* Benerva der Deutschen Hoffmann-La Roche AG., Grenzach/Baden.

Abb. 2. Absterbekurven des Vorversuches.



mit 1,5 mg Vitamin B<sub>1</sub> behandelten Tieren zeigten die Sarkome geringeres, von den Kontrollen deutlich unterscheidbares langsames Anwachsen.

Aus der Absterbekurve geht hervor, daß bei Gabe von 0,5 bzw. 1,5 mg Thiamin die Tiere anfänglich länger lebten, dann jedoch schneller starben; ein Tier überlebte. Die Dosis von 1,5 mg Vitamin B<sub>1</sub> wirkte sich auf die Beeinflussung des Tumorumfanges günstiger aus als die geringere Dosis; sie wurde deshalb für den Hauptversuch gewählt (Abb. 2).

Bei den folgenden Röntgenbestrahlungsversuchen wählten wir die bereits von Barth, Graebner und Wachsmann [12] gefundene optimale Einzeldosis von 510 R jeden zweiten Tag, wie sie an einem heterozygoten Händlerstamm erprobt war. Um den Injektionsstreß als eventuelle Fehlerquelle in der Beurteilung der Überlebenszeit ausschalten zu können, wurde Kontrolltieren täglich 0,2 ml physiologische Kochsalzlösung paratumoral verabreicht. Die Bestrahlung begann bei einer durchschnittlichen Tumorgroße von 2 ml Volumen.

### Ergebnis

Unter täglicher paratumoraler Verabreichung von 1,5 mg Thiamin zeigte sich anfänglich geringfügige Tumorumfangzunahme, ab 4. Tag nach Bestrahlungsbeginn jedoch eine kontinuierliche Rückbildung des Sarkoms bis zum letzten Tag der Bestrahlung. Um die lokale Vitamin-B<sub>1</sub>-Wirkung bei paratumoraler Applikation von einer Allgemeinwirkung des Thiamins abgrenzen zu können, verabreichten wir einer zweiten Tiergruppe Thiamin intramuskulär, d. h. tumorfern. Hier zeigte sich eine wesentlich geringere Beeinflussung des Versuchstumors. (Der starke Volumenzugang bis zum 14. Tag nach Behandlungsbeginn beruht nicht auf einem Erfolg der Strahlentherapie, sondern auf dem Überleben eines Tieres mit sehr kleinem Tumor.)

Bei der Kontrollgruppe nahm das Tumorumfang zunächst bis zu einem sehr hohen Durchschnittswert am 8. Tag nach Bestrahlungsbeginn zu, nahm dann aber bis zum 14. Tag kontinuierlich auf 2,8 ml ab. Nach weiterem Einsetzen erneuten Sarkomwachstums bis zum 18. Tag bildete sich der Tumor bis zum 22. Tag dann nur noch zögernd zurück (Abb. 3).

Von besonderem Interesse sind hier die Absterbekurven, die — ähnlich wie im Vorversuch — sowohl bei paratumoraler als auch bei intramuskulärer Verabreichung von Vitamin B<sub>1</sub> wesentlich rascheres Absterben der Tiere gegenüber

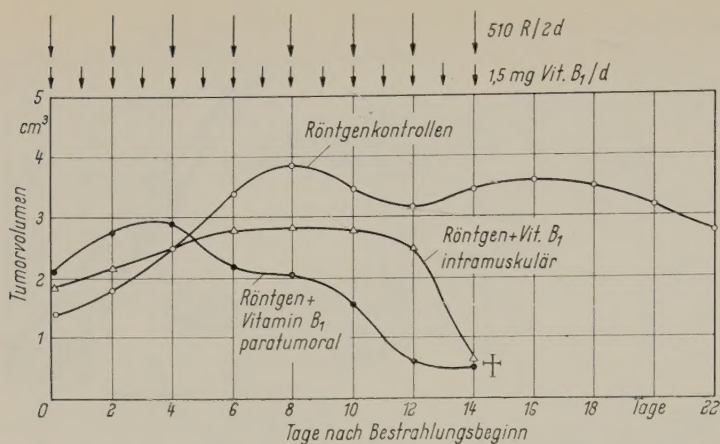


Abb. 3. Tumolvolumenentwicklung bei paratumoraler bzw. intramuskulärer Verabreichung von Vitamin B<sub>1</sub> im Vergleich zu Kontrollen.

den Kontrollen, die nur bestrahlt wurden, erkennen lassen. Doch zeigt sich auch in der Kontrollgruppe eine sehr starke Abnahme in der Überlebensrate; denn bis zum 22. Tag nach Bestrahlungsbeginn waren bereits sämtliche Tiere gestorben. Dies ist gegenüber früheren Untersuchungen [12] ein signifikant schlechteres Ergebnis, als es bei gleichen Versuchen an Mäusen eines heterozygoten Stammes erzielt worden war (Abb. 4).

#### Diskussion der Versuchsergebnisse

Bei 100 Mäusen eines homozygoten Stammes mit Sarkom 180 wurden unter Röntgenbestrahlung die Tumoren nur unbefriedigend beeinflusst. Die Anzahl der Versuchstiere wurde absichtlich sehr hoch gewählt, um ein genaues Bild über die Auswirkung der Bestrahlung im 48-Stunden-Rhythmus zu erhalten. Das frühere Absterben der Tiere — keines überlebte den 22. Tag nach Bestrahlungsbeginn — beweist nicht nur das Bestehen einer Relation zwischen Tumorgröße, verabreichter hoher Raumdosis und Überlebenszeit, sondern läßt auch keinen Vergleich mit früheren von uns mitgeteilten Ergebnissen zu [1, 2, 3, 4].

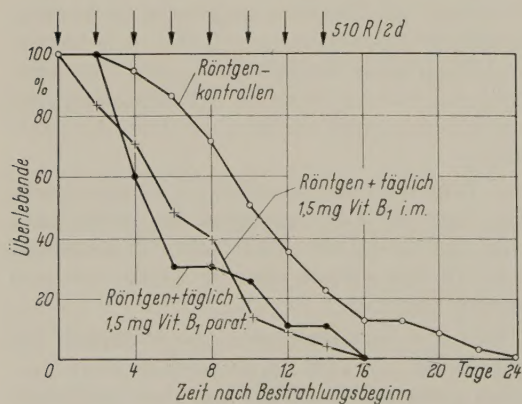
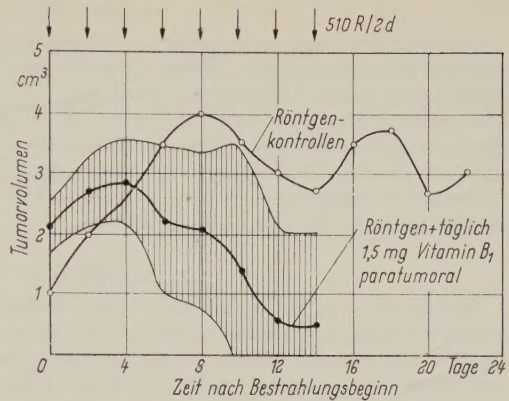


Abb. 4. Rascheres Absterben der Tiere unter parenteraler Vitamin-B<sub>1</sub>-Verabreichung und Röntgenbestrahlung gegenüber Röntgenkontrollen.

Abb. 5. Signifikante Differenz in der Tumolvolumenentwicklung unter Röntgenbestrahlung und täglicher paratumoraler Verabreichung von Vitamin B<sub>1</sub> (schraffierte Fläche = 3mal mittlerer Fehler des Mittelwertes).



Bei direkter Einwirkung des Thiamins am Tumorbett war wohl ein gegenüber den Kontrollen signifikanter Unterschied in der Tumolvolumenentwicklung erkennbar, jedoch war der Allgemeinzustand der Tiere infolge häufigen Auftretens von Nekrosen viel schlechter, was sich in den Absterbekurven widerspiegelt (Abb. 5).

Die Ergebnisse dieser ersten Untersuchungsreihe über die Verabreichung von Vitamin B<sub>1</sub> bei der Tumorbestrahlung lassen den Schluß zu, daß Thiamin wohl auf Grund seiner engen Beziehungen zum Kohlenhydratstoffwechsel eine Verbesserung der Sauerstoffutilisation einerseits im paratumoralen Gewebe, andererseits aber auch in der Tumorzelle selbst bewirkt. Was die Beeinflussung der Überlebensrate durch Vitamin B<sub>1</sub> bei Röntgenstrahleneinwirkung anbetrifft, so sind auch die Ergebnisse anderer Untersuchungen, wie zum Beispiel die von Pfab [15] geprüfte Überlebenszeit bei der Ganzkörperbestrahlung von Kaulquappen, die einem Vitamin-B<sub>1</sub>-haltigen Milieu ausgesetzt waren, und die Befunde von Röhrlich [16], der ebenfalls Vitamin B<sub>1</sub> bei der Röntgenstrahlenwirkung an Kaulquappen erprobte, wenig überzeugend. Unsere Erfahrungen besagen, daß sich beim rasch entwickelnden Crocker-Sarkom an Mäusen des Inzuchtstammes NMRI unter dem Einfluß von Thiamin die Überlebenszeit der Tiere nicht verlängert, sondern im Gegenteil überraschenderweise verkürzt wird. Wir halten es daher für notwendig, auch an heterozygoten Mäusestämmen unter gleichen Versuchsbedingungen den Einfluß von Vitamin B<sub>1</sub> auf die Überlebenszeit der Tiere und das Tumolvolumen zu untersuchen, wie überhaupt weitere ähnliche Untersuchungen unter Verwendung anderer experimenteller Tumoren durchzuführen.

#### Zusammenfassung

An 235 Mäusen des homozygoten Stammes NMRI mit schnell wachsenden Tumoren (Crocker-Sarkom) vorgenommene Untersuchungen mit zusätzlicher paratumoraler Vitamin-B<sub>1</sub>-Verabreichung zur fraktionierten Röntgenbestrahlung erbrachten signifikant bessere Volumenrückbildungen. Die Überlebenszeit der Tiere konnte jedoch unter dem Einfluß von Vitamin B<sub>1</sub> nicht verlängert werden. Es wird die Frage aufgeworfen, ob derartigen Untersuchungen an Inzucht-Tierstämmen nicht der generelle Nachteil anhaftet, daß solche Tiere a priori eine im Vergleich zu heterogenem Tiermaterial herabgesetzte Strahlenresistenz haben, was die Bewertung und Deutung der Ergebnisse erschwert.

## Summary

Investigations concerning paratumoral application of vitamin B<sub>1</sub> in addition to fractionated X-ray irradiation showed a significantly better tumor regression. 235 mice of homozygous strain NMRI with rapidly growing tumors (Crocker sarcoma) were used. The survival time of the animals could not be prolonged by adding vitamin B<sub>1</sub>. The question rises as to whether such investigations done with inbred animal strains do not have the general disadvantage, that those animals have a priori a decreased radiation resistance in comparison to heterogenous animal material. This makes evaluation and interpretation of the results more difficult.

## Résumé

Des études sont faites sur 235 souris de souche homozygote NMRI porteuses de tumeurs à croissance rapide (sarcome de Crocker) avec administration paratumorale de vitamine B<sub>1</sub> complémentaire à une irradiation fractionnée. Ces expériences montrent une regression du volume tumoral nettement supérieure, toutefois sans augmentation de survie. Les auteurs se demandent si, dans de telles expériences, le fait d'utiliser des animaux de souche pure, dont la moindre radiorésistance est bien connue, ne constitue pas un inconvénient. Ceci rendrait plus difficile l'interprétation des résultats.

## Schrifttum

1. Barth, G., H. Graebner u. H. Strößenreuther: Strahlentherapie 113 (1960): 280. —
2. Barth, G., u. H. Graebner: Strahlentherapie 115 (1961): 310. — 3. Barth, G., H. Endisch u. H. Graebner: Strahlentherapie 116 (1961): 550. — 4. Barth, G., H. Graebner u. H. Drechsel: Strahlentherapie 1962 (im Druck). — 5. Botsztejn, Ch.: Radiol. clin. 11 (1942): 349. — 6. Lüdin, N.: Strahlentherapie 74 (1944): 367. —
7. Radion u. Simonet: Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 6 (1924): 601. — 8. Boje, H.: Acta med. 33 (1940): 130. — 9. Schön, H., F. C. Sitzmann u. G. Barth: Strahlentherapie 105 (1958): 585. — 10. Oettel, H., u. G. Wilhelm: Arzneimittel-Forsch. 4 (1959): 695. — 11. Dies.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmac. 230 (1957): 559. — 12. Barth, G., H. Graebner u. F. Wachsmann: Strahlentherapie 112 (1960): 280. — 13. Maurer, H. J.: Fortschr. Röntgenstr. 89 (1958): 356. — 14. Maurer, H. J., u. R. Dittmeyer: Strahlentherapie 102 (1957): 531. — 15. Pfab, H. J.: Diss. Erlangen 1952. — 16. Röhrich, E. H.: Diss. Erlangen 1953.

## Lebenslauf

Am 13. November 1933 wurde ich, Erich Georg Dister als Sohn und erstes von 3 Kindern dem Zahnarzt Georg Dister und seiner Ehefrau Lisl, geb. Kroder in Wendelstein, Krs. Schwabach geboren. 1936 verzogen meine Eltern nach Nürnberg, wo ich Ostern 1940 in die Volksschule eintrat. 1943 total ausgebombt, zogen wir zu Verwandten nach Heiligenstadt/Ofr. 1944 bestand ich die Aufnahmeprüfung an der Oberrealschule Forchheim. Dort blieb ich bis 1949. Nach einem weiteren Wohnungswechsel über Schwabach nach Fürth legte ich hier 1956 ebenfalls an der Oberrealschule mein Abitur ab. Im Herbst des gleichen Jahres begann ich mit dem Zahnmedizinstudium in Erlangen. Anfang Sommersemester 1959 bestand ich hier die zahnärztliche Vorprüfung und im Frühjahr 1962 das zahnärztliche Staatsexamen.

Erlangen, den 1. August 1962

gez. Erich Dister

